11 月 November
2019, 62(11): 1279 - 1285
昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA
http://www.insect.org.cn
doi: 10.16380/j.kcxb.2019.11.005

# 啶虫脒对西方蜜蜂蜂王培育质量的影响

史晶亮[1], 江武军[2], 颜伟玉[1], 吴小波[1,*]

(1. 江西农业大学蜜蜂研究所, 南昌 330045; 2. 江西省养蜂研究所, 南昌 330052)

**摘要:**【目的】本实验旨在研究王台中残留啶虫脒对西方蜜蜂 *Apis mellifera* 蜂王培育质量的影响。【方法】通过融化蜂蜡并添加啶虫脒药液制作王台,使各王台中分别含 4 个不同剂量的啶虫脒(0, 10, 100 和 1 000 μg/kg 蜂蜡)。同时,控制蜂王产卵 6 h, 3 d 后,将孵化为 1 日龄的幼虫分别移入各组王台中,并放入蜂群哺育。移虫后第 3 和 6 天分别统计各组王台中幼虫的接受率和封盖率,待蜂王出房时,计算其出房率,测定蜂王个体初生重、胸重和胸宽指标;采用实时荧光定量 PCR(qPCR)技术测定蜂王卵巢中卵黄原蛋白基因(*Vg*)、储存蛋白基因(*hex*110 和 *hex70b*)的相对表达量。【结果】100 μg/kg 蜂蜡和 1 000 μg/kg 蜂蜡这两个啶虫脒剂量组西方蜜蜂蜂王的出房率都显著低于 0 μg/kg 蜂蜡和 10 μg/kg 蜂蜡剂量组,而 0 μg/kg 蜂蜡与 10 μg/kg 蜂蜡剂量组之间及 100 μg/kg 蜂蜡与 1 000 μg/kg 蜂蜡剂量组之间出房率均差异不显著;这 4 个剂量组的王台幼虫接受率和封盖率以及蜂王的初生重、胸重和胸宽均无显著差异。qPCR 结果显示,*Vg* 基因的相对表达量随啶虫脒浓度的增加而下降,其中,1 000 μg/kg 蜂蜡剂量组 *Vg* 基因的相对表达量显著低于 10 μg/kg 蜂蜡剂量组和 0 μg/kg 蜂蜡剂量组,其余各剂量组之间差异不显著;这 4 个剂量组之间 *hex*110 和 *hex70b* 基因的表达量差异不显著。【结论】西方蜜蜂王台中啶虫脒残留超过 100 μg/kg 蜂蜡剂量时,会对蜂王培育产生不利影响。

**关键词:** 西方蜜蜂; 蜂王培育; 啶虫脒; 王台; 基因表达; 卵巢发育; 卵黄原蛋白; 储存蛋白

**中图分类号:** Q968　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 0454-6296(2019)11-1279-07

## Effects of acetamiprid on queen rearing in the western honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)

SHI Jing-Liang[1], JIANG Wu-Jun[2], YAN Wei-Yu[1], WU Xiao-Bo[1,*] (1. Honeybee Research Institute, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. Apicultural Research Institute of Jiangxi Province, Nanchang 330052, China)

**Abstract:**【Aim】The aim of this study is to determine the effects of acetamiprid residue in queen cell on queen rearing in the western honey bee, *Apis mellifera*.【Methods】Queen cells were made with dissolved beeswax and by adding acetamiprid solution, and queen cells containing four different doses of acetamiprid (0, 10, 100 and 1 000 μg/kg beeswax) respectively were obtained. Meanwhile, a queen was restricted in a comb to lay eggs for 6 h. When the larvae hatched from those eggs, 1-day-old larvae were grafted into the above queen cells followed by feeding in bee colonies. On day 3 and day 6 after graft, the acceptance and capped rates of larvae in queen cells of each group were respectively counted. The number of emerged queens in all groups was recorded, and the birth weight, thorax weight and thorax width of these queens were measured. The relative expression levels of vitellogenin gene (*Vg*) and hexamerin genes (*hex*110 and *hex70b*) in queen ovaries were detected by qPCR.【Results】The emergence rates of reared queens of *A. mellifera* in the acetamiprid dose groups of 100 μg/kg beeswax

基金项目: 江西省杰出青年人才资助项目(20162BCB23029); 江西省自然科学基金项目(20171BAB204012)
作者简介: 史晶亮, 男, 1996 年 9 月生, 江西吉安人, 硕士研究生, 研究方向为养蜂学, E-mail: sjl_net@163.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: wuxiaobo21@163.com
收稿日期 Received: 2019-07-11; 接受日期 Accepted: 2019-09-06

and 1 000 μg/kg beeswax were significantly lower than those in the 0 μg/kg beeswax dose group and the 10 μg/kg beeswax dose group, while there were no significant differences among other dose groups. There were no significant differences in the acceptance rate and capped rate of the larvae, and the birth weight, thorax weight and thorax width of emerged queens among the four dose groups. The results of qPCR showed that the relative expression levels of *Vg* gene decreased with the increasing concentrations of acetamiprid. Among them, the relative expression level of *Vg* in the 1 000 μg/kg beeswax dose group was significantly lower than those in the 10 μg/kg beeswax dose group and the 0 μg/kg beeswax dose group, but there was no significant difference between the other dose groups. Furthermore, the expression levels of *hex*110 and *hex70b* showed no significant difference among the four groups. 【Conclusion】When the residue of acetamiprid in queen cells is over 100 μg/kg beeswax, it will generate negative effects on the process of queen rearing in *A. mellifera*.

**Key words**: *Apis mellifera*; queen rearing; acetamiprid; queen cell; gene expression; ovary development; vitellogenin; hexamerin

蜜蜂在维持生态系统平衡和保护生物多样性方面扮演着不可或缺的角色,其为农作物提供授粉服务,进而提高农产品的产量和品质(Klein *et al.*, 2007)。然而,近年来蜂群数量损失严重,引起了社会各界的广泛关注。时至今日,虽然还未能锁定影响蜂群数量骤减的确切原因,但大量关于杀虫剂尤其是新烟碱类杀虫剂对蜜蜂不利影响的研究瞬间浮出水面,而学者们也相继将影响蜂群损失的矛头指向新烟碱这类神经毒性杀虫剂(Sánchez-Bayo and Goka, 2014; 史晶亮等, 2019)。早在 2013 年 12 月,欧盟就开始对新烟碱类杀虫剂吡虫啉、噻虫嗪和噻虫胺 3 个品种实施限用政策,以降低或避免对蜜蜂种群的危害(Godfray *et al.*, 2014)。

新烟碱类杀虫剂的大量应用使蜜蜂的健康受到严重的威胁,甚至被认为是导致蜜蜂发生蜂群崩溃失调症(colong collapse disorder, CCD)现象的主要因素(Sánchez-Bayo and Goka, 2014)。而作为第三代新烟碱类杀虫剂的啶虫脒,由于其具有广谱性、高效性、用量少和持效期长等特点,目前已被广泛应用于农业生产中。但该杀虫剂较其他新烟碱类杀虫剂同样可作用于蜜蜂神经系统突触部位的乙酰胆碱受体,干扰蜜蜂神经系统的传导,从而导致蜜蜂麻痹死亡(Bicker, 1999)。当啶虫脒被喷洒在众多的开花植物上,采集蜂可通过采集花粉或花蜜将杀虫剂啶虫脒一并运回蜂群;当饲养蜂群距离施药作物较近时,农药喷雾同样可以借助风力以粉尘的方式污染整个蜂群,这都在一定程度上造成了蜡脾的污染(Sánchez-Bayo, 2014; Tsvetkov *et al.*, 2017)。Herrera-López 等(2016)检测出 4% ~6% 的蜂蜡样品中含有新烟碱,其中啶虫脒、吡虫啉和噻虫啉在蜂蜡中残留分别为 4.0, 5.1 和 10.4 ng/g。另有研究检测出 30 个蜂蜡样品中存在 4 个高浓度啶虫脒残留,依次为 11, 23, 36 和 61 μg/kg(Jabot *et al.*, 2015)。Sánchez-Bayo 和 Goka(2014)报道了花粉和花蜜中也存在较高浓度的啶虫脒残留,其中花粉中平均残留量为 3 μg/kg,最高可达 134 μg/kg,花蜜中平均残留量为 2.4 μg/kg,最高 13.3 μg/kg。通常,蜂蜡中的实际农药残留会更高,因为随着年份的累积,蜂蜡中的农药残留会积聚下来(Daniele *et al.*, 2017)。此外,Haarmann 等(2002)通过研究发现蜡质王台中的农药残留比周围的工蜂巢房要高得多。而王台中的农药残留也会影响蜂王的生存和质量(Pettis *et al.*, 2004)。

蜂王是蜂群生存和繁衍的根基,蜂王质量的好坏关乎着整个蜂群的兴衰。而王台中的啶虫脒残留对蜂王培育质量的影响研究还未见报道。研究发现,蜂王质量与蜂王初生重、胸重、胸宽以及卵巢相关基因表达成正相关(Guidugli *et al.*, 2005; Tarpy *et al.*, 2012; Amiri *et al.*, 2017)。其中,与蜂王卵巢发育相关的重要基因主要有卵黄蛋白原(vitellogenin, Vg)基因(*Vg*)、储存蛋白 110(hexamerin 110, hex110)基因(*hex*110)和储存蛋白 70b(hexamerin 70b, hex70b)基因(*hex70b*)(Blank *et al.*, 2013)。基于此,我们通过在人造王台中添加不同剂量的啶虫脒,分析其对西方蜜蜂 *Apis mellifera* 蜂王幼虫接受率、封盖率以及蜂王出房率的影响,同时测定其对蜂王外部形态指标以及蜂王卵巢发育相关基因的表达情况,以探究蜡质王台中不同剂量啶虫脒残留对蜂王培育的毒性效应。

# 1　材料与方法

## 1.1　供试昆虫

试验蜂群西方蜜蜂 *A. mellifera*，由江西农业大学蜜蜂研究所提供，并进行标准化饲养。实验开展时间为 2018 年 5 – 7 月。

## 1.2　供试试剂

99.5%啶虫脒原药（百灵威科技有限公司），蜂蜡（上饶市益精蜂具有限公司生产的巢础），氯化钠（分析纯，西陇化工有限公司），TRIzol 总 RNA 提取试剂盒（北京全式金生物技术有限公司），反转录和荧光定量 PCR 试剂盒 SYBR® Premix Ex Taq™ Ⅱ（均购自 TaKaRa 公司）。

## 1.3　育王及药物处理

**1.3.1**　王台制作和药物处理：准备好恒温水浴锅并加热至 68℃左右，称量巢础，将其置于水浴锅中缓慢受热融化，待其全部溶解后，加入啶虫脒药液（乙腈溶剂）并充分混匀，啶虫脒可以长时间耐受 60℃以上高温不分解（齐崇广等，2003）。参照 Jabot 等(2015)报告蜂蜡中啶虫脒残留为 11 ~ 61 μg/kg，试验设计含不同剂量啶虫脒(0，10，100 和 1 000 μg/kg 蜂蜡)的溶液制作王台。

**1.3.2**　移虫育王：选取群势较强的 3 个继箱群作为育王群，另外以 1 群产卵性能较好的蜂群作为母本群。隔王产卵 6 h，再将产卵脾移至孵化区。3 d 后，人工移取 1 日龄幼虫于人造王台中，每一剂量组移取幼虫数约 16 头，以 3 个试验蜂群重复 3 次实验，将育王框放入继箱无王区哺育。

## 1.4　王台接受率、封盖率及蜂王出房率统计

移虫后第 3 天和第 6 天分别统计各组王台的接受率和封盖率，待蜂王出房前 2 d 将育王框转移至恒温恒湿箱（温度 35℃，相对湿度 75% ±5%）中孵化，最后统计蜂王出房率（胡景华等，2018；廖春华等，2018）。

$$王台接受率 = \frac{接受王台数}{药物处理王台数} \times 100\%；$$

$$王台封盖率 = \frac{封盖王台数}{药物处理王台数} \times 100\%；$$

$$蜂王出房率 = \frac{蜂王出房数}{药物处理王台数} \times 100\%。$$

## 1.5　蜂王形态指标测定

在蜂王出房 2 h 内，用电子天平称量其初生重；剪下蜂王胸部并去除翅足，称量其胸部重量（胸重）；再用游标卡尺测量胸部宽度（胸宽）。

## 1.6　荧光定量 PCR 测定 *Vg*，*hex*110 和 *hex70b* 基因的相对表达量

**1.6.1**　样品采集：解剖刚出房蜂王的腹部，采集双侧卵巢并转移至 1.5 mL RNase-free 的 EP 管中，迅速用液氮冷冻，最后保存于 –80℃冰箱用于后续检测。

**1.6.2**　总 RNA 提取及 cDNA 的合成：以 1 头蜂王卵巢作为一个样品，每组 4 个平行，重复 3 次，总 RNA 的提取和 cDNA 的合成步骤都是参照试剂盒说明书。使用核酸蛋白测定仪检测总 RNA 的纯度（$OD_{260}/OD_{280}$值在 1.9 ~ 2.1 之间，符合标准），再利用琼脂糖凝胶电泳（1.5%）评估 18S，28S 和 5S rRNA 条带的完整性。

**1.6.3**　引物设计及荧光定量 PCR：根据 GenBank 中内参基因和目的基因的 mRNA 序列分别设计 *Vg*，*hex*110 和 *hex70b* 基因的上下游引物序列，由生工生物工程（上海）股份有限公司合成（表 1）。qPCR 反应体系（10 μL）：cDNA 1 μL，上下游引物（12.5 μmol/L）各 0.4 μL，TB Green™ Premix Ex Taq™ Ⅱ 5 μL，Rox 0.2 μL，$ddH_2O$ 3 μL，离心混匀后放入 qPCR 仪中进行扩增反应。反应条件：95℃ 30 s；95℃ 10 s，60℃ 1 min，40 个循环；之后 50℃加热到 90℃（每 6 s 升高 1℃）。本反应以甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因（*GAPDH*）作为内参，每个样本重复 3 次。建立溶解曲线，收集目的基因与内参基因的 Ct 值（Wang *et al.*，2014），运用$2^{-\triangle\triangle Ct}$法计算目的基因的相对表达量（Schmittgen and Livak，2008）。

**表 1　实时荧光定量引物信息**

**Table 1　Information of primers used in real-time quantitative PCR**

| 基因 Gene | 上游引物 Forward primer (5′ – 3′) | 下游引物 Reverse primer (5′ – 3′) |
|---|---|---|
| *Vg* | CGTGTTCCAGAGGACGTTGA | ACGCTCCTCAGGCTCAACTC |
| *hex*110 | AACGTGCCAGGCGCAGTTGT | TTCACCAGCATGGAGGTTCTGGA |
| *hex70b* | GAGGACGGTAGCGAGTCCTT | ATGTTGCGGCCCAATACAGG |
| *GAPDH* | GCTGGTTTCATCGATGGTTT | ACGATTTCGACCACCGTAAC |

### 1.7 数据分析

先使用箱形图法对初生重、胸宽、胸重及基因表达进行异常值处理，再采用 SPSS17.0 软件中的"log-rank tests"进行统计分析；而王台接受率、封盖率及蜂王出房率先进行反正弦代换，再进行方差分析。当 $P<0.05$，使用 ANOVA 检验中的 LSD 多重比较进行分析。

## 2 结果

### 2.1 啶虫脒对西方蜜蜂王台接受率、封盖率及蜂王出房率的影响

由表 2 可知，各剂量组之间王台幼虫的接受率差异不显著（$F_{3,8}=0.744$，$P=0.555$），封盖率差异也不显著（$F_{3,8}=1.058$，$P=0.419$）；然而，100 μg/kg 蜂蜡和 1 000 μg/kg 蜂蜡剂量组蜂王的出房率都要显著低于 0 μg/kg 蜂蜡和 10 μ/kg 蜂蜡剂量组（$F_{3,8}=11.481$，$P=0.003$），0 μg/kg 蜂蜡和 10 μg/kg 蜂蜡剂量组之间及 100 μg/kg 蜂蜡和 1 000 μg/kg 蜂蜡剂量组之间差异均不显著［$P_{(0,\ 10)}=0.208$；$P_{(100,\ 1\ 000)}=0.752$］。

### 2.2 啶虫脒对西方蜜蜂蜂王初生重、胸重及胸宽的影响

由表 3 可知，啶虫脒对刚出房蜂王的初生重、胸重和胸宽等测定参数无明显影响（初生重：$F_{3,72}=0.972$，$P=0.411$；胸重：$F_{3,72}=0.251$，$P=0.860$；胸宽：$F_{3,72}=1.226$，$P=0.307$）。

**表 2 啶虫脒对西方蜜蜂培育蜂王王台接受率、封盖率及蜂王出房率的影响**

**Table 2 Effects of acetamiprid on the acceptance rate of queen cells, the proportion of capped queen cells and the emergence rate of reared queens of *Apis mellifera***

| 啶虫脒浓度（μg/kg 蜂蜡）Concentration of acetamiprid (μg/kg beeswax) | 样本量 Sample size | 接受率（%）Acceptance rate | 封盖率（%）Proportion of capped queen cells | 出房率（%）Emergence rate |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 48 | 96.49 ± 3.51 a | 87.83 ± 2.81 a | 73.30 ± 2.47 a |
| 10 | 44 | 100.00 ± 0.00 a | 90.55 ± 6.98 a | 77.98 ± 2.84 a |
| 100 | 48 | 96.67 ± 3.33 a | 83.06 ± 0.98 a | 59.46 ± 3.03 b |
| 1 000 | 45 | 94.21 ± 3.22 a | 83.08 ± 4.59 a | 60.57 ± 2.52 b |

表中数据为平均值 ± 标准误；同列数据后不同字母表示差异显著（$P<0.05$，LSD 多重比较）。Data in the table are mean ± *SE*. Different letters following the data in the same column mean significant difference ($P<0.05$, Fisher's LSD test). 表 3 同 The same for Table 3.

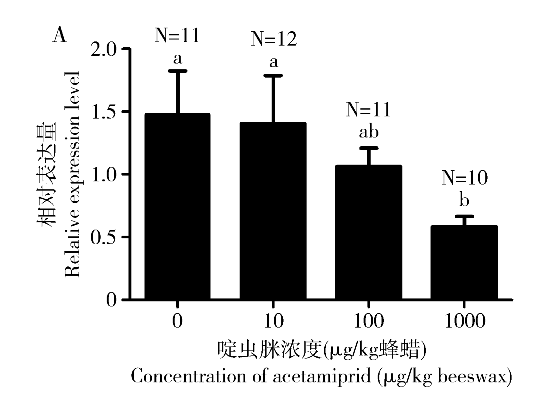
**表 3 啶虫脒对西方蜜蜂培育蜂王初生重、胸重及胸宽的影响**

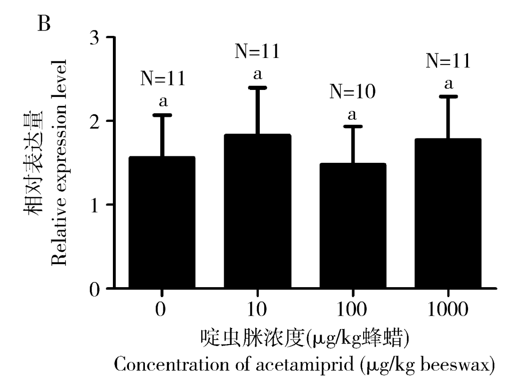
**Table 3 Effects of acetamiprid on the birth weight, thorax weight and thorax width of newly emerged queens of *Apis mellifera***

| 啶虫脒浓度（μg/kg 蜂蜡）Concentration of acetamiprid (μg/kg beeswax) | 样本量 Sample size | 初生重（mg）Birth weight | 胸重（mg）Thorax weight | 胸宽（mm）Thorax width |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 18 | 238.22 ± 4.75 a | 57.72 ± 0.77 a | 4.49 ± 0.04 a |
| 10 | 20 | 238.05 ± 3.58 a | 58.90 ± 1.09 a | 4.43 ± 0.05 a |
| 100 | 18 | 230.06 ± 4.56 a | 58.83 ± 1.67 a | 4.43 ± 0.06 a |
| 1 000 | 20 | 231.25 ± 4.65 a | 57.75 ± 1.49 a | 4.35 ± 0.05 a |

### 2.3 啶虫脒对西方蜜蜂蜂王卵巢基因 *Vg*，*hex*110 及 *hex70b* 相对表达量的影响

qPCR 结果如图 1 所示。由图 1(A)可知，*Vg* 基因的相对表达量随啶虫脒浓度的增加而下降，其中，1 000 μg/kg 蜂蜡剂量组 *Vg* 基因的相对表达量显著低于 10 μg/kg 蜂蜡剂量组和 0 μg/kg 蜂蜡剂量组［$P_{(10,\ 1\ 000)}=0.047$；$P_{(0,\ 1\ 000)}=0.035$］；但 10 μg/kg 蜂蜡剂量组和 0 μg/kg 蜂蜡剂量组及 100 μg/kg 蜂蜡和 1 000 μg/kg 蜂蜡剂量组之间差异均不显著［$P_{(0,\ 10)}=0.855$；$P_{(100,\ 1\ 000)}=0.251$］。由图 1(B)可知，各剂量组间 *hex*110 基因的相对表达量无显著差异（$F_{3,39}=0.100$，$P=0.960$）；图 1(C)分析结果表明各剂量组间 *hex70b* 基因的相对表达量也无显著差异（$F_{3,43}=0.287$，$P=0.834$）。



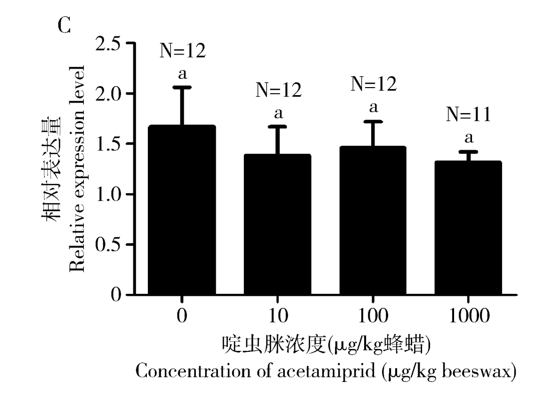




图 1　啶虫脒对西方蜜蜂蜂王卵巢 *Vg*（A），*hex*110（B）及 *hex70b*（C）相对表达量的影响

Fig. 1　Effects of acetamiprid on the relative expression levels of *Vg*（A），*hex*110（B）and *hex70b*（C）in the ovary of honey bee queens of *Apis mellifera*

图中数据为平均值 ± 标准误；柱上不同字母表示差异显著（$P<0.05$，LSD 多重比较），N 代表各剂量组样品数。Data in the figure are mean ± *SE*. Different letters above bars mean significant difference（$P<0.05$，Fisher's LSD test），and N represents the sample size of each dose group.

## 3　讨论与结论

蜜蜂通过采集外界花蜜、花粉和水等食物来维持蜂群的正常发育与繁衍工作，而有些作物开花时会被喷洒农药，蜜蜂会把残留农药的食物搬运回巢房储存，间接污染整个蜂巢。研究表明蜜蜂更偏爱采食含有新烟碱农药的食物（Kessler *et al*.，2015）。啶虫脒作为一种新型的新烟碱类杀虫剂被广泛应用于田间害虫防治，而且对抗有机磷类、拟除虫菊酯类和氨基甲酸酯类杀虫剂的害虫有很好的杀虫效果。相应地，研究人员也检测出蜂蜡中含有高浓度啶虫脒残留（Jabot *et al*.，2015）。本实验旨在研究王台中不同剂量的啶虫脒残留对西方蜜蜂培育蜂王质量的影响。结果表明，100 μg/kg 蜂蜡和 1 000 μg/kg 蜂蜡这 2 个啶虫脒剂量组会显著降低蜂王的出房率，而各剂量组王台的接受率和封盖率与 0 μg/kg 蜂蜡剂量组之间差异均不显著（表 2），说明蜂王从幼虫期到蛹期是慢性暴露于亚致死剂量啶虫脒的一个过程，当王台中的啶虫脒残留量高于 100 μg/kg 蜂蜡时，蜂王幼虫在封盖后开始出现死亡现象。所以影响蜂王出房率的啶虫脒残留量的最低阈值介于 10～100 μg/kg 蜂蜡之间，而 Jabot 等（2015）报道的蜂蜡中啶虫脒最高残留为 61 μg/kg，实际养蜂生产过程中受啶虫脒污染的王台可能会对培育蜂王的存活能力造成潜在威胁。另外，10，100 和 1 000 μg/kg 蜂蜡 3 个啶虫脒剂量组培育的蜂王在初生重、胸重和胸宽方面与 0 μg/kg 蜂蜡剂量组之间差异不显著（表 3），可能是试验组王台中啶虫脒残留浓度不会影响幼虫的采食量，从而不足以导致蜂王外部形态特征发生变化，所以各组之间差异不显著。

卵黄原蛋白（Vg）是蜜蜂卵黄发生的关键大分子物质，是合成卵黄蛋白的前体物质，而卵黄蛋白可为蜂王的卵巢发育提供蛋白质、必需氨基酸等营养和功能性物质（王秀秀等，2015），其表达水平与蜂王的寿命、免疫力、卵巢发育以及产卵能力紧密相关（Engels，1974；Amdam *et al*.，2005；张卫星和胥保华，2014）。因此，*Vg* 基因的表达水平可作为衡量蜂王质量好坏的重要指标。qPCR 结果显示，*Vg* 基因的相对表达量随着啶虫脒浓度的增加有下降趋

势,1 000 μg/kg 蜂蜡剂量组 *Vg* 基因相对表达量显著低于 0 μg/kg 蜂蜡和 10 μg/kg 蜂蜡剂量组(图 1),说明王台中的啶虫脒残留偏高时会对蜂王卵巢发育存在不利影响。储存蛋白(hexamerin, hex)是昆虫储存起来供以后作为营养物质利用的蛋白,研究发现储存蛋白的表达与雌性昆虫产卵能力密切相关(Hahn and Wheeler, 2003; 杨文静, 2016)。*hex*110 和 *hex70b* 都属于 *hex* 基因家族成员(Martins *et al*., 2010)。本研究结果显示,不同啶虫脒剂量组对蜂王体内 *hex*110 和 *hex70b* 基因的相对表达量与 0 μg/kg 蜂蜡剂量组之间均差异不显著,可能是残留剂量不够,也可能是这种农药在王台中残留不会影响其储存蛋白基因表达,卵黄原蛋白基因和储存蛋白基因的作用机制也可能存在差异,这些均有待于进一步研究。

综上所述,当王台中的啶虫脒残留超过 100 μg/kg 蜂蜡时,会显著影响蜂王的出房率;当残留量达到 1 000 μg/kg 蜂蜡时,会显著降低 *Vg* 基因的表达水平。然而,王台中含有啶虫脒,对其培育蜂王的生产性能以及蜂王其他生理生化指标等影响尚不清楚,这有待于进一步研究。因此,在养蜂生产中,尽量避免啶虫脒在蜂群中残留,淘汰旧巢脾,减少啶虫脒残留对蜂王培育的影响。

## 参考文献(References)


Amdam GV, Aase ALTO, Seehuus SC, Fondrk MK, Norberg K, Hartfelder K, 2005. Social reversal of immune senescence in honey bee workers. *Exp. Gerontol*., 40(12): 939-947.

Amiri E, Strand M, Rueppell O, Tarpy D, 2017. Queen quality and the impact of honey bee diseases on queen health: potential for interactions between two major threats to colony health. *Insects*, 8(2): 48.

Bicker G, 1999. Histochemistry of classical neurotransmitters in antennal lobes and mushroom bodies of the honeybee. *Microsc. Res. Tech*., 45(3): 174-183.

Blank S, Seismann H, McIntyre M, Ollert M, Wolf S, Bantleon FI, Spillner E, 2013. Vitellogenins are new high molecular weight components and allergens (Api m 12 and Ves v 6) of *Apis mellifera* and *Vespula vulgaris* venom. *PLoS ONE*, 8(4): e62009.

Daniele G, Giroud B, Jabot C, Vulliet E, 2017. Exposure assessment of honeybees through study of hive matrices: analysis of selected pesticide residues in honeybees, beebread, and beeswax from French beehives by LC-MS/MS. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int*., 25(12): 1-9.

Engels W, 1974. Occurrence and significance of vitellogenins in female castes of social Hymenoptera. *Am. Zool*., 14(4): 1229-1237.

Godfray HCJ, Blacquière T, Field LM, Hails RS, Petrokofsky G, Potts SG, Raine NE, Vanbergen AJ, McLean AR. 2014. A restatement of the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci*., 281(1786): 20140558.

Guidugli KR, Piulachs MD, Bellés X, Lourenço AP, Simões ZL, 2005. Vitellogenin expression in queen ovaries and in larvae of both sexes of *Apis mellifera*. *Arch. Insect Biochem. Physiol*., 59(4): 211-218.

Haarmann T, Spivak M, Weaver D, Weaver B, Glenn T, 2002. Effects of fluvalinate and coumaphos on queen honey bees (Hymenoptera: Apidae) in two commercial queen rearing operations. *J. Econ. Entomol*., 95(1): 28-35.

Hahn DA, Wheeler DE, 2003. Presence of a single abundant storage hexamerin in both larvae and adults of the grasshopper, *Schistocerca americana*. *J. Insect Physiol*., 49(12): 1189-1197.

Herrera-López S, Lozano A, Sosa A, Hernando MD, Fernández-Alba AR, 2016. Screening of pesticide residues in honeybee wax comb by LC-ESI-MS/MS. A pilot study. *Chemosphere*, 163: 44-53.

Hu JH, Liao CH, Jiang WJ, Huang XR, Wang ZL, Yan WY, 2018. Effects of different location of queen cell bar on quality of rearing queens in *Apis cerana cerana*. *J. Environ. Entomol*., 40(4): 925-930. [胡景华, 廖春华, 江武军, 黄新然, 王子龙, 颜伟玉, 2018. 育王框位置对中华蜜蜂蜂王质量的影响. 环境昆虫学报, 40(4): 925-930]

Jabot C, Fieu M, Giroud B, Buleté A, Casabianca H, Vulliet E, 2015. Trace-level determination of pyrethroid, neonicotinoid and carboxamide pesticides in beeswax using dispersive solid-phase extraction followed by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Int. J. Environ. Anal. Chem*., 95(3): 240-257.

Kessler SC, Tiedeken EJ, Simcock KL, Derveau S, Mitchell J, Softley S, Stout JC, Wright GA, 2015. Bees prefer foods containing neonicotinoid pesticides. *Nature*, 521(7550): 74-76.

Klein AM, Vaissiere BE, Cane JH, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Tscharntke T, 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proc. Biol. Soc. B Biol. Sci*., 274(1608): 303-313.

Liao CH, Zhang B, Shi JL, Wu XB, 2018. Effects of fluvalinate on the quality of reared queens of the western honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Acta Entomol. Sin*., 61(2): 218-223. [廖春华, 张波, 史晶亮, 吴小波, 2018. 氟胺氰菊酯对西方蜜蜂育王质量的影响. 昆虫学报, 61(2): 218-223]

Martins JR, Nunes FM, Cristino AS, Simões ZL, Bitondi MM, 2010. The four hexamerin genes in the honey bee: structure, molecular evolution and function deduced from expression patterns in queens, workers and drones. *BMC Mol. Biol*., 11(1): 23.

Pettis JS, Collins AM, Wilbanks R, Feldlaufer MF, 2004. Effects of coumaphos on queen rearing in the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie*, 35(6): 605-610.

Qi CG, Ren YB, Li YF, Li J, 2003. Study on stability of acetamiprid micro-emulsion. *Appl. Chem. Ind*., (4): 54-55, 60. [齐崇广, 任元宾, 李艳芬, 李钧, 2003. 3% 啶虫脒微乳剂的稳定性研

究. 应用化工, (4): 54–55, 60]

Sánchez-Bayo F, 2014. The trouble with neonicotinoids. *Science*, 346(6211): 806–807.

Sánchez-Bayo F, Goka K, 2014. Pesticide residues and bees – a risk assessment. *PLoS ONE*, 9(4): e94482.

Schmittgen TD, Livak KJ, 2008. Analyzing real-time PCR data by the comparative C(T) method. *Nat. Protoc.*, 3(6): 1101–1108.

Shi JL, Yang L, Liao CH, Wu XB, 2019. Research progress on the toxicological effects of neonicotinoid insecticides on honeybees. *Agrochemicals*, 58(1): 6–10. [史晶亮, 杨乐, 廖春华, 吴小波, 2019. 新烟碱类杀虫剂对蜜蜂毒理作用的研究进展. 农药, 58(1): 6–10]

Tarpy DR, Keller JJ, Caren JR, Delaney DA, 2012. Assessing the mating 'health' of commercial honey bee queens. *J. Econ. Entomol.*, 105(1): 20–25.

Tsvetkov N, Samson-Robert O, Sood K, Patel HS, Malena DA, Gajiwala PH, Maciukiewicz P, Fournier V, Zayed A, 2017. Chronic exposure to neonicotinoids reduces honey bee health near corn crops. *Science*, 356(6345): 1395–1397.

Wang WX, Tian LQ, Huang Q, Wu XB, Zeng ZJ, 2014. Effects of 10-hydroxy-2-decenoic acid on the development of honey bee (*Apis mellifera*) larvae. *J. Apic. Res.*, 53(1): 171–176.

Wang XX, Yang MH, Li C, Kuang HO, He SY, Li YH, 2015. Cloning and fundamental bioinformatical characteristics of vitellogenin cDNA in honeybees *Apis cerana*. *Apic. China*, 66(3): 12–15. [王秀秀, 杨明华, 李昌, 匡海鸥, 和绍禹, 李亚辉, 2015. 东方蜜蜂卵黄原蛋白基因 cDNA 克隆及其基本生物信息学特征. 中国蜂业, 66(3): 12–15]

Yang WJ, 2016. The Expression and Function of hex70b and hex110 in Honeybee (*Apis mellifera*). MSc Thesis, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou. [杨文静, 2016. 西方蜜蜂储存蛋白 hex70b 和 hex110 的表达与功能研究. 福州: 福建农林大学硕士学位论文]

Zhang WX, Xu BH, 2014. Overview of vitellogenin of honey bee. *J. Bee*, 34(5): 5–7. [张卫星, 胥保华, 2014. 蜜蜂卵黄原蛋白的研究进展. 蜜蜂杂志, 34(5): 5–7]

(责任编辑: 赵利辉)